

温度和渗透胁迫对细叶鸦葱种子萌发的影响*

田美华^{1,2}, 唐安军^{2,3}, 宋松泉^{4**}

(1 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 昆明 650223; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049;

3 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 4 中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要: 多年生早春短命植物细叶鸦葱 (*Scorzonera pusilla*) 种子小而轻, 吸水性强, 非休眠。对其进行变温和渗透胁迫实验, 结果为: 细叶鸦葱种子的适宜萌发温度介于 0~15℃, 以 4℃ 为最佳; 变温对种子萌发无明显的促进作用。种子萌发率随 PEG 和 NaCl 溶液水势的降低而降低, 与渗透胁迫程度呈负相关。而且, 在渗透胁迫下, 幼苗脯氨酸含量随胁迫程度的增强而增加。尽管温度不同, 但是等渗的 NaCl 溶液对细叶鸦葱种子及其幼苗的胁迫程度大于 PEG 溶液, 且表现出明显的离子毒害效应。结果对阐明荒漠区早春短命植物的生态地理格局及其干旱适应机制有着重要的理论意义。

关键词: 细叶鸦葱; 干旱适应机制; 种子; 渗透胁迫; 离子毒害效应; 脯氨酸

中图分类号: Q 945

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2700 (2007) 06 - 682 - 05

The Effects of Temperature and Osmotic Stress on the Germination of *Scorzonera pusilla* (Compositae) Seeds

TIAN Mei-Hua^{1,2}, TANG An-Jun^{2,3}, SONG Song-Quan^{4**}

(1 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

4 Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: *Scorzonera pusilla* is one of the early-spring short-lived perennial desert plants. Non-dormant seeds of *S. pusilla* are very small and light, and able to absorb water very quickly. Suitable temperature for germination was between 0 and 15℃, and the optimum temperature was 4℃. With the increasing temperature, the germination percentage decreased evidently. Especially, temperature fluctuations had not significant effect on seed germination. Final germination percentages decreased distinctly with decreasing water potential of PEG and NaCl solution. The relationship between water potential of different solutions and germination was negative. The stronger the osmotic stress was, the more the proline content of seedlings was. The effects of NaCl on germination and seedlings were much stronger than that of iso-osmotic PEG in spite of two different temperatures, and the proline content of seedlings confronting increasing water stress was increased sharply. When the concentration of NaCl increased to some extent, the salt toxicity occurred besides water stress. The results are valuable to elucidate the ecogeographical patterns and mechanisms for adaptation of such early-spring ephemeral plants in the desert environments.

Key words: *Scorzonera pusilla*; Drought-adaptive strategy; Seed; Osmotic stress; Salt toxicity; Proline

在诸多的影响植物种子萌发的生态因子中, 温度是决定种子萌发的重要条件之一, 其作用主要

* 基金项目: 科技部国家科技基础条件平台项目(2005DKA21006)资助

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: sqsong@ibcas.ac.cn

收稿日期: 2007-03-28, 2007-06-05 接受发表

作者简介: 田美华 (1981-) 女, 硕士研究生, 主要从事种子生理生态研究。E-mail: iromas777@163.com

有两个方面: 一是直接影响萌发, 二是调控休眠 (Brändel, 2004; Baskin and Baskin, 1988)。尽管许多研究表明, 在温带干旱环境中, 较大的昼夜与季节性温度变化, 显著地影响种子的萌发, 然而, 在干旱环境中, 水分可能是最重要的影响因子, 严格控制着植物种子的萌发和植株的存活 (Rojas-Aréchiga 等, 1997)。种子耐盐性是种子在萌发过程中对盐分引起的渗透胁迫和离子效应的综合适应。土壤中过高的盐分对植物主要造成水分胁迫和离子毒害, 并呈阶段性的表现 (Munns 等, 2006)。研究盐生植物种子萌发的生理生态特性, 对濒危盐生植物种质资源保护、受损生态系统的恢复和盐生植物资源的开发利用具有至关重要的意义。

细叶鸦葱 (*Scorzonera pusilla* Pall.) 是具串珠状近球形块根的多年生早春中旱生短命的盐生植物 (<http://www.cau.edu.cn/psi/research/WYE2/halophyte%20list%20of%20Xinjiang.htm>), 在我国主要分布在内蒙古、甘肃、青海和新疆等省区, 多生于海拔 500~1 600 m 的山坡草地、沙丘、沙地、沙砾质荒漠、路旁和盐化湖岸; 高加索、西西伯利亚、中亚、伊朗和蒙古也有分布 (毛祖美和张佃民, 1994; 贺学礼, 2004)。在新疆北部, 气候特征表现为冬春多雨雪, 夏季干热, 许多早春短命植物分布于此 (毛祖美和张佃民, 1994)。早春短命植物区系是荒漠区独特的组成部分, 阐明早春短命植物种子种群的生态适应机制, 对于了解干热植物群的生活史特征和植物群落的演替动态是极其重要的。本文以细叶鸦葱作为研究对象, 研究了温度对其种子萌发的效应, 以及水分和盐胁迫下的脯氨酸的含量的变化, 初步阐述了该植物对其生境的适应特点。

1 材料和方法

1.1 材料

成熟的细叶鸦葱 (*Scorzonera pusilla* Pall.) 种子于 2006 年 5 月下旬采集于石河子市区附近的将军山山麓 (44°11.77' N, 86°5.16' E, 650 m Alt.) 的自然群落。

1.2 方法

1.2.1 种子含水量和吸水曲线的测定 取 20 粒种子, 5 个重复, 用烘干法确定其含水量 (ISTA, 1985)。另取 50 粒种子, 3 个重复, 称重后放入盛有蒸馏水的烧杯中, 在 25 恒温条件下吸胀, 分别取吸胀 1 h、2 h、4 h、6 h、

12 h、24 h、36 h、48 h 和 60 h 的种子, 用滤纸吸干表面水分后, 用精度为 0.0001 g 的电子天平称重, 计算种子重量的增加量, 并绘制种子的吸水曲线。

1.2.2 不同温度下的种子萌发 将种子分别置于 0、4、10、15、20、25、30 和 35 以及变温 20/30、4/15 和 4/10 (白天 14 h: 晚上 10 h) 的培养箱 (HPG-280B, 哈尔滨东联电子技术开发有限公司), 光照 14 h/d, 光照强度为 $33.48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (LI-COR 1400 Data logger, USA)。0 处理: 将盛有试验种子的培养皿埋于冰内, 黑暗。培养皿的直径为 9 cm, 用 5 ml 蒸馏水润湿滤纸。每一培养皿内置种子 25 粒, 4 个重复。每 3 d 观察记录 0 下的种子萌发情况; 其他温度下的种子, 每 24 h 检测一次, 及时补充蒸馏水, 并将已萌发 (胚根突破种皮的视为萌发) 的种子移走。霉烂的种子视为无活力的种子。萌发持续时间为 60 d。

1.2.3 不同水势的 PEG-8000 溶液处理 根据 Michel (1983) 的方法, 配置 10 下水势为 -1.54、-3.17 和 -4.22 MPa 的 PEG 溶液。在萌发实验中, 将 100 粒种子放于垫有双层滤纸的直径为 9 cm 的培养皿中, 分别加 5 ml 蒸馏水 (对照) 或者不同水势的 PEG 溶液, 每个处理 4 个重复。在上述光照培养箱内培养 (14 h/d), 温度为 10 。每 24 h 观察记录一次萌发情况, 每 2 d 完全更换一次培养皿中的溶液。胚根突破种皮视为萌发。种子萌发形成的幼苗 (1~2 cm) 被用来测其脯氨酸的含量。

1.2.4 不同水势的 NaCl 溶液处理 根据公式 ($\pi = -RTCs_i$, 配制 4 下水势为 -0.15、-0.31、-0.49 和 -0.98 MPa 的 NaCl 溶液。在公式中, R 是 $8.2 \times 10^{-6} \text{ MPa mmol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, T 是 283K, Cs 是溶液浓度 (mmol/L)。溶液系数 i 是 1 (Meyer and Boyer, 1981))。将种子用不同水势的 NaCl 溶液处理, 4 × 100 粒种子为一组, 置于 4 的光照培养箱中培养 (14 h/d)。每 2 天更换一次培养皿内的溶液 (5 ml), 同样, 以蒸馏水为对照。种子萌发后形成的幼苗 (1~2 cm) 被用来测定脯氨酸含量。

1.2.5 幼苗脯氨酸含量的测定 将 1.2.3 和 1.2.4 各组处理下萌发的幼苗, 洗净, 烘干, 取 0.3~0.5 g 干重样品, 根据 Bates 等 (1973) 的方法测定脯氨酸的含量, 以 $\mu\text{g/g dry weight (DW)}$ 表示。

1.2.6 统计分析 将观察记录的数据, 用 SPSS (12.0) 软件包进行单因子方差检验 (One-Way ANOVA), 平均数之间的差异用 LSD (最少显著差异性) 检测。萌发实验的结果以平均数 ± 标准差表示。

2 结果

2.1 细叶鸦葱种子的吸水特性

细叶鸦葱的种子是小粒型的, 千粒重约为 $4.12 \pm 0.14 \text{ g}$; 种子含水量约为 $0.0867 \text{ g H}_2\text{O/g}$

DW(g/g DW)。从种子的吸水动态看(图1),吸水过程可以分为3个阶段:(1)第一阶段为前2 h,迅速吸水;(2)第2阶段为2~12 h,吸水减缓;(3)第3阶段是12 h后达到其吸水承载力,趋于平衡。并且,第一阶段的吸水量(0.18 g)占总吸水量(0.23 g)的78.3%。

2.2 温度对种子萌发的影响

细叶鸦葱种子是非休眠的,温度对萌发率以及萌发速率(数据未在图上表示)有显著的影响(图2)。种子萌发的适宜温度范围介于0~15℃之间,且以4℃为最佳。3个变温体系对细叶鸦葱种子萌发率无明显的促进作用。有趣的是,在0℃条件下经历较长时间(60 d)后,有67%的种子萌发。此外,当温度高于15℃,无论是变温还是恒温,种子的萌发率均较低,甚至失去活力(图2)。

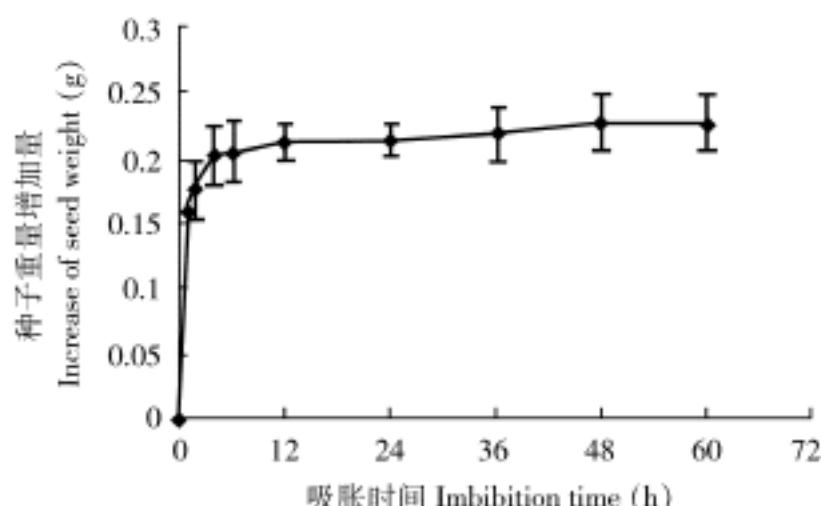


图1 细叶鸦葱种子在25℃时的吸水曲线

Fig. 1 Curve of water uptake by *Scorzonera pusilla* seeds at 25

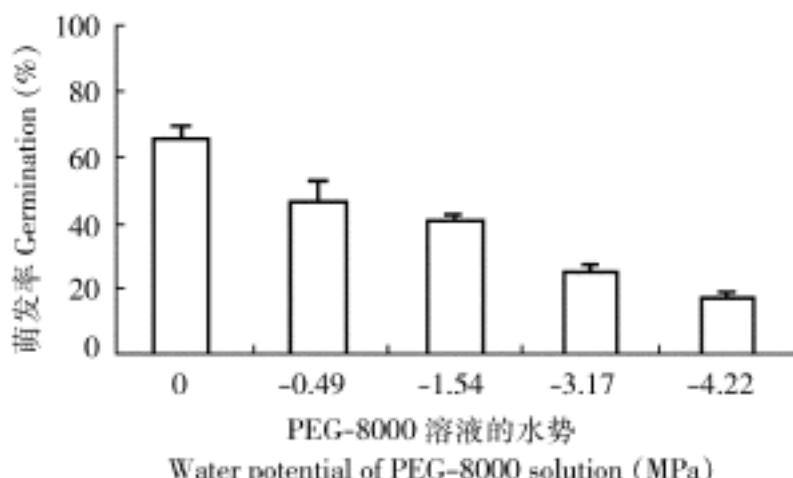


图3 细叶鸦葱种子在10℃下对不同水势的PEG-8000溶液的萌发响应

Fig. 3 Germination responses of *Scorzonera pusilla* seeds to different water potential of PEG-8000 solution at 10

2.3 不同水势的PEG-8000溶液处理下的萌发

不同水势的PEG-8000溶液,对细叶鸦葱种子的萌发率有明显的影响(图3)。在10℃时,细叶鸦葱种子的萌发率随着水势的降低而降低,即从66%减少到17%。

2.4 不同水势的NaCl溶液处理下的萌发

细叶鸦葱种子的萌发率显著地受盐分的影响。在4℃时,对照(蒸馏水处理)的萌发率最高;用水势为-0.15 MPa的NaCl溶液处理后,该种子的萌发率仅有32%;当用水势为-0.98 MPa的NaCl溶液处理,细叶鸦葱种子的萌发率为零(图4)。

2.5 渗透胁迫下的幼苗脯氨酸含量

随着PEG-8000和NaCl溶液水势的降低,细叶鸦葱幼苗的脯氨酸含量明显增加,且均高于对照(图5)。

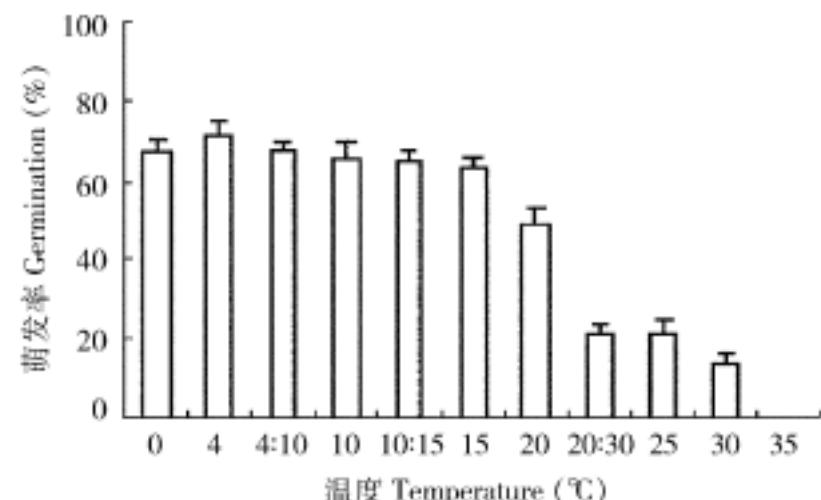


图2 细叶鸦葱种子在不同温度下的萌发率

Fig. 2 The germination percentages of *Scorzonera pusilla* seeds at different temperature

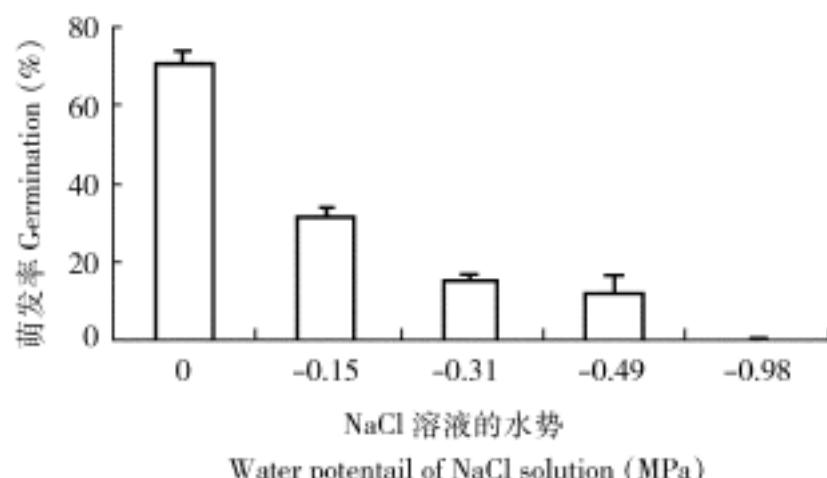


图4 在4℃下不同NaCl溶液处理对细叶鸦葱种子萌发率的影响

Fig. 4 Effects of different water potential of NaCl solution on germination percentage of *Scorzonera pusilla* seeds at 4

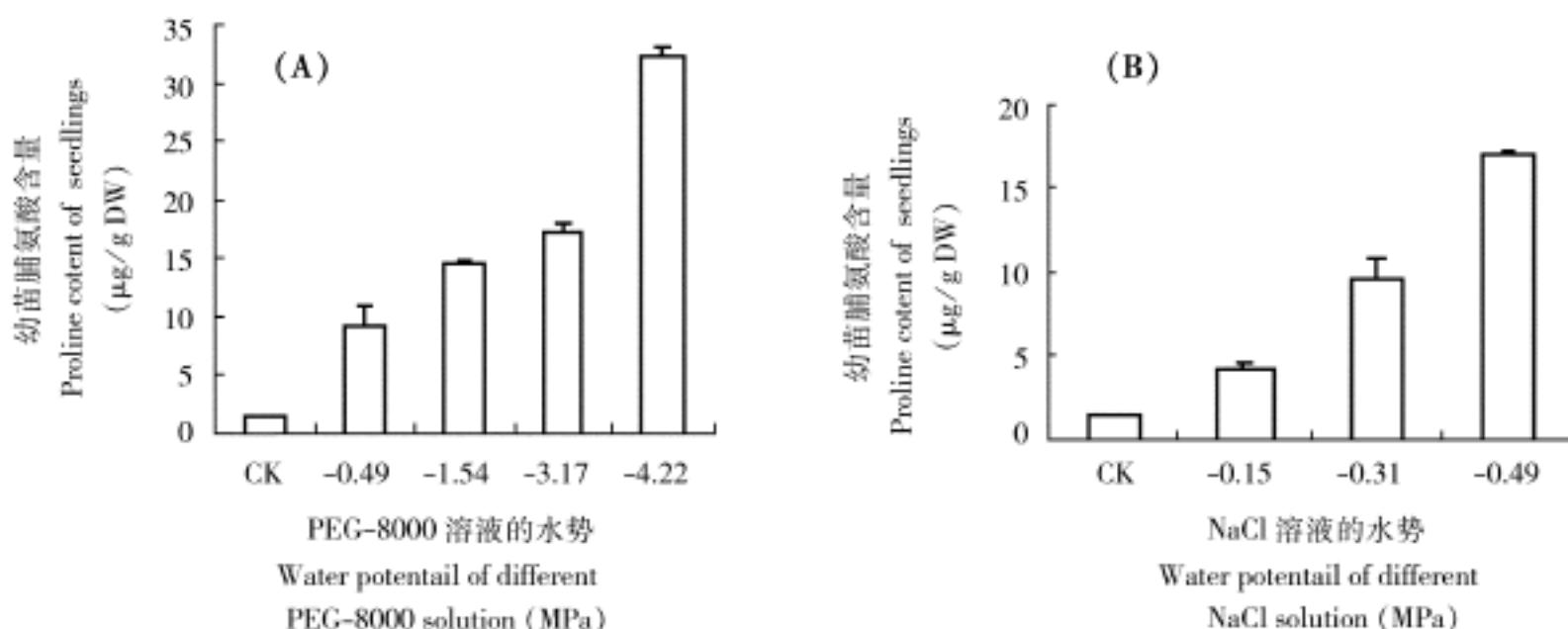


图 5 细叶鸦葱种子受不同水势的 PEG-8000 溶液 (10⁻⁴) (A) 和 NaCl 溶液 (4⁻⁴) (B) 处理后，所形成的幼苗的脯氨酸含量

Fig. 5 Proline content of *Scorzonera pusilla* seedlings produced by seeds treated by different PEG-8000 (A) and NaCl (B) solution

3 讨论

种子萌发始于水分吸收 (Bewley, 1997)。在环境水分和温度等条件适宜时，非休眠或解除休眠的种子便吸水萌发。然而，新疆北部的将军山位于准噶尔盆地南缘，气候比较恶劣，冬春多雨雪，夏季炎热，年平均气温在 6.5 ~ 7.2 之间；年降雨量约为 125 ~ 270 mm (<http://www.shznw.com/about/?ID=qihou>)。细叶鸦葱种子在 5 ~ 6 月成熟，此时气候炎热，土壤十分干燥。细叶鸦葱种子是小粒型的，很轻，但数量多，这代表了沙地荒漠植物种子进化方向之一，即产生大量的小粒型种子，而且在沙漠中，许多植物都能产生大量的小粒型种子，并在成熟后迅速传播 (Guterman, 1993, 1994)。种子被散播之后，被取食、休眠或萌发，其命运是很不确定的，尤其是在十分严酷的沙漠环境中，种子因水分的限制而无法正常萌发。细叶鸦葱种子迅速吸水的能力，非常有利于其充分利用沙地荒漠中的稀少雨水 (图 1)。细叶鸦葱萌发的适宜温度范围是 0 ~ 15^oC，且 0 ~ 4^oC 更有利于其萌发，变温对其萌发无明显的促进作用 (图 2)。或许，能快速吸水和种子萌发对温度的严格要求是细叶鸦葱与其他早春短命植物的共同特点。Jurado 等 (2000) 在研究墨西哥东北部半干旱地区的短命植物时，发现某些短命植物的萌发温度也是在 12^oC 以下，这与细叶鸦葱种子的萌发温度十分相似。可以推断，

细叶鸦葱种子对萌发温度的严格选择，是其对生境适应的方式之一。

在干旱半干旱区，水分缺乏和盐分含量较高是限制植物生长和繁殖的主要因素 (Song 等, 2005)。这些因素降低了土壤溶液的水势，从而导致植物短暂或永久性的水分亏缺。除了因干旱产生的渗透影响外，盐胁迫还会对植物细胞代谢产生离子毒害 (Munns 等, 2006)。因此，在胁迫条件下，保持最佳的水分状态和完整的组织结构对于植物存活是至关重要的。为此，活植物体将发展出两大适应性对策：一是被诱导合成新的物质，二是通过积累小分子量的有机物质或者通过控制吸收的离子区隔化优化细胞介质，以确保细胞内酶系统的正常功能 (Kuznetsov and Shevyakova, 1999; Su 等, 2006; Wang 等, 2006)。在高等植物处于胁迫因子的作用下时，脯氨酸是最常产生的渗透调节剂之一 (Xu 等, 2002)。在不同的胁迫条件下，植物体内游离的脯氨酸含量的增加量是不同的。在萌发过程中受不同水势的 PEG 溶液作用后，细叶鸦葱种子的萌发率逐渐降低 (图 3)，所形成的幼苗的脯氨酸含量随胁迫程度增加而增加 (图 5: A)。可见，一定数量的游离脯氨酸积累可能是细叶鸦葱对水分胁迫的一种应激反应。同样，细叶鸦葱在水势为 -0.15 MPa 的 NaCl 溶液胁迫下，不但萌发率急剧降低，而且所产生的幼苗的脯氨酸含量明显高于对照 (图

5: B)。随着NaCl溶液胁迫强度的增加,虽然实生苗的脯氨酸含量增加(图5: B),但细叶鸦葱种子的萌发率仍急剧降低(图4)。这也表明游离脯氨酸的渗透调节作用是有限的。而且,尽管温度不同,但等水势(-0.49 MPa)的NaCl溶液比PEG溶液对细叶鸦葱种子的胁迫效应大得多,可能是离子毒害效应(图5)。盐胁迫产生盐害时,植物代谢失调,引起蛋白质合成下降或脯氨酸氧化受阻,从而积累较多的游离脯氨酸,因此,可以认为长期大量的游离脯氨酸的积累不仅是适应盐胁迫的策略,也是发生盐害(盐毒性)的表现。这与已报道的结果一致(孙志宾等,2006; Lin and Zhu, 1997; 杨洪兵等,2005)。

在沙漠干旱环境中,干旱逃避是许多植物的一种适应策略。对短命植物而言,在可获得水分期间快速地产生种子有助于保存和延续其种族,因为此类植物耐旱机制相对较弱。而干旱忍耐则是大多数原始的陆地植物具有的机制,这种机制能确保它们在极其严酷的脱水胁迫下存活。一种或其它策略的联合可以赋予植物干旱适应的能力。从细叶鸦葱种子萌发及其幼苗脯氨酸积累的特点看,细叶鸦葱干旱适应机制是逃避型的。这与它的生活史及其生境特点是吻合的,也决定了它的地理分布格局。这样,通过阐明细叶鸦葱类短命植物在渗透胁迫条件的生态生理响应机制,能更有效地从中筛选抗旱耐盐的植物种质,为草料生产和固沙等实践提供理论依据。

[参考文献]

- Baskin CC, Baskin JM, 1988 . Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperature region [J] . *Amer J Bot*, **75**: 286—305
 Bates LS, Walderen RP, Teare ID, 1973 . Rapid determination of free proline for water stress studies [J] . *Plant Soil*, **39**: 205—207
 Bewley D, 1997 . Seed germination and dormancy [J] . *The Plant Cell*, **9**: 1055—1066
 Brändel M, 2004 . The role of temperature in the regulation of dormancy and germination of two related summer-annual mudflat species [J] . *Aquatic Bot*, **79**: 15—32
 Guterman Y, 1993 . Seed Germination in Desert Plants, Adaptations of Desert Organisms [M] . Berlin: Springer-Verlag
 Guterman Y, 1994 . Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting deserts [J] . *Bot Review*, **60**: 373—425

- He XL (贺学礼), 2004 . Study on the genus *Scorzonera* L . from China [J] . *J Hebei Univ (Nat Sci Ed)* (河北大学学报·自然科学版), **24** (1): 65—73
 ISTA, 1985 . International Rules for Seed Testing . Annexes 1985 [J] . *Seed Sci & Technol*, **13**: 299—513
 Jurado E, Aguirre O, Flores J et al . 2000 . Germination in tamaulipan thornscrub of north-eastern Mexico [J] . *J Arid Environ*, **46**: 413—424
 Kuznetsov VV, Shevyakova NI, 1999 . Proline under stress conditions: biological role, metabolism, and regulation [J] . *Russian J Plant Physiol*, **46** (2): 274—287
 Lin JP, Zhu JK, 1997 . Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt- hypersensitive mutant of *Arabidopsis* [J] . *Plant Physiol*, **114**: 591—596
 Mao ZM (毛祖美), Zhang DM (张佃民), 1994 . The conspectus of ephemeral flora in northern Xinjiang [J] . *Arid Zone Res* (干旱区研究), **11** (3): 1—26
 Meyer RF, Boyer JS, 1981 . Osmoregulation, solute distribution and growth in soybean seedlings having low water potentials [J] . *Planta*, **151**: 482—489
 Michel B, 1983 . Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutions [J] . *Plant Physiol*, **72**: 66—70
 Munns R, James RA, Luchi A, 2006 . Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals [J] . *J Exp Bot*, **57** (5): 1025—1043
 Rojas-Aréchiga M, Orozco-segovia A, Vázquez-Yanes C, 1997 . Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México [J] . *J Arid Environ*, **36**: 571—578
 Song J, Feng G, Tian CY et al . 2005 . Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed-germination stage [J] . *Ann Bot*, **96**: 399—405
 Su J, Hirji R, Zhang L et al . 2006 . Evaluation of the stress-responsive determinants in *Arabidopsis* by large-scale forward genetic screens [J] . *J Exp Bot*, **57** (5): 1119—1128
 Sun ZB (孙志宾), Qi XY (齐兴云), Zhang HT (张洪涛) et al . 2006 . The effect of NaCl to the growth and osmotic regulation of *Arabidopsis thaliana* [J] . *Shandong Sci* (山东科学), **19** (3): 7—14
 Wang GB, Davenport RJ, Volkov V et al . 2006 . Low unidirectional sodium influx into root cells restricts net sodium accumulation in *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana* [J] . *J Exp Bot*, **57** (5): 1161—1170
 Xu SJ, An LZ, Feng HY et al . 2002 . The seasonal effects of water stress on *Ammopitanthus mogolicus* in a desert environment [J] . *J Arid Environ*, **51**: 437—447
 Yang HB (杨洪兵), Han ZH (韩振海), Xu XF (许雪峰), 2005 . Effects of NaCl and iso-osmotic polyethylene glycol on free proline contents of *Malus* [J] . *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **41** (2): 157—162